

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG GERBSTOFFHALTIGER ZELLEN IN DEN REPRODUKTIVEN ORGANEN DER CORNUS-ARTEN

von

G. D. JUHÁSZ, — B. DÁNOS, — N. RAKOVÁN

Lehrstuhl für Angewandte Botanik und Histogenese der Eötvös Loránd Universität, Budapest

Eingegangen: 19. November 1969

Die Untersuchung und die ultrastrukturellen Beziehungen der pflanzlichen Ausscheidungssysteme und ihrer Stoffwechselprodukte stehen heute im Mittelpunkt der Forschungen, wobei in den letzten Jahren mehrere Abhandlungen über die Bildung von Gerbstoffen veröffentlicht wurden (E s a u 1965, G i n z b u r g 1967, C o n s t a b e l 1969).

Die Verfasser der vorliegenden Abhandlung versuchten die Klarstellung der letzteren Frage im Zusammenhang mit den Arten *Cornus sanguinea* L. und *Cornus mas* L. näherzubringen; sie wurden auf das Thema durch das histologische Studium der Blüten und des Blütenstandes bei den genannten Arten (J u h á s z 1964, 1966), sowie durch die Untersuchung der sich im Gynäzeum von *Cornus mas* organisierenden Sekretbehälter und ihres Inhaltes aufmerksam gemacht (J u h á s z — D á n o s 1966).

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Entwicklung dieser tanninhaltigen Zellen bzw. mit der Anhäufung der Gerbstoffe auf licht- und elektronenmikroskopischer Ebene.

Material und Methode

Für Untersuchungszwecke wurden die reproduktiven Organe der beiden genannten *Cornus*-Arten benutzt, wobei das Material im Falle von *Cornus sanguinea* in der Umgebung von Budapest (Farkasvölgy) und im Falle von *C. mas* aus dem Botanischen Garten der Universität (Stadtgebiet Budapest) während der Vegetationsperiode dem verschiedenen Entwicklungsgrad der reproduktiven Organe entsprechend, fortlaufend gesammelt wurde.

Für lichtmikroskopische Untersuchungen wurde das Material in B o u i n s c h e m Fixiermittel (S á r k á n y — S z a l a i 1964) fixiert; nach der üblichen Einbettung in Paraffin wurden mikrotomische Reihenschnitte bereitet. Für feinstrukturelle Untersuchungen wurden die betreffenden Organteile in 0,75 — 1% -os KMnO_4 -Lösung fixiert. Mit Einbettung in Durcupan und mit Hilfe des Ultramikrotoms Typ Porter-Blum wurden die Schnitte für die elektronen-

mikroskopische Untersuchung bereitet. Für die Aufnahmen stand im elektronenmikroskopischen Laboratorium unseres Instituts in Alsógöd ein Elektronenmikroskop Typ KEM 1 zur Verfügung.*

Ergebnisse

A) Lichtmikroskopische Beobachtungen

Sowohl bei *C. sanguinea*, als auch bei *C. mas* konnte die Anwesenheit von Gerbstoffen nur während und nach dem Aufblühen in den Zellen der Gewebe um das Ovarium nachgewiesen werden. Dieser Zeitpunkt erfolgt bei *C. sanguinea* im allgemeinen im Mai, bei der anderen Art im März, obwohl die Entwicklung ihrer reproduktiven Phase viel früher, schon im Sommer des Vorjahres beginnt. Die gerbstoffhaltigen Zellen sind in der äußersten, d. h. unter der Epidermis befindlichen Geweberegion des doppelhöhligen unterständigen Gynäzeums zu beobachten (Abb. 1.); diese Geweberegion ist parenchymatischer Natur und hat im allgemeinen eine Breite von 11–13 Zellenreihen. Die Gerbstoffe sind zu Beginn in Form von winzigen Ausscheidungsgranülen in weiteren Abständen zu sehen (Abb. 2.), scheiden sich sodann in immer größeren Mengen aus, bis schließlich die zentrale Vakuole mit einer homogenen Masse ausgefüllt wird (Abb. 3.).

In *C. sanguinea* erscheinen die später einen Tanningehalt aufweisenden Zellen vereinzelt und in zerstreuter Anordnung; mit dem Fortschreiten der Entwicklung werden jedoch die Zellen der betreffenden Geweberegion in ihrer Mehrheit gerbstoffhaltig. Zuletzt bilden sich solche Zellen in der subepidermalen Schicht.

Bei einem Vergleich mit der entsprechenden Geweberegion von *Cornus mas* fällt auf, daß hier die Synthese der Gerbstoffe in kleineren oder größeren Gruppen benachbarter Zellen beginnt, eine Eigenschaft, die auch im Fruchtzustand erhalten bleibt (Abb. 4.). Als besonderes Charakteristikum sei das Vorhandensein der „Zellenpaare“ gleicher Funktion (gerbstoffhaltige Initialen) erwähnt (Abb. 5., 6., 7.), die im Anfangsstadium den Primordien der sich in den inneren Geweben des Stempels derselben Art bildenden Sekretbehälter sehr ähnlich sehen.

B) Elektronenmikroskopische Beobachtungen

Die Primordien der vorangehend erwähnten Zellenpaare, als Gerbstoffbehälter können auch aufgrund einer elektronenmikroskopischen Untersuchung registriert werden (Abb. 8.). Unter den Organellen der Zellen dominieren die Plastiden, die mal länglich, mal biskottförmig sind und unterentwickelte Tillakoid-Lamellen haben.

Auch die Zellen von *C. sanguinea* sind von der hohen Zahl und den großen Dimensionen der Plastiden gekennzeichnet, ihre Form ist aber zumeist oval bis rundlich (Abb. 9.); in beiden Arten sind sie voll großer Stärkekörnchen. Ebenfalls in großer Anzahl sind die verhältnismäßig kleineren Mitochondrien,

* Wir sprechen der Assistentin Frau K. Petrovits für ihre wertvolle Hilfe unseren Dank aus.

Dictyosomen sowie das endoplasmatische Retikulum zu finden. Bei den untersuchten Zellen ordnen sich die beiden letzteren Zellenorganellen immer in der Nachbarschaft der Plastiden an, kommen aber vereinzelt vor (Abb. 9.).

Die Erscheinung der elektrodenten Flecken, aus denen man auf die Ausscheidung der Gerbstoffe schließen kann, beginnt in den Plastiden, so daß man in ihnen die Desintegration der Stärkekörner (Abb. 10.) und gleichzeitig die Bildung zahlreicher Vesikeln beobachten kann (Abb. 11.). Diese werden allmählich von den charakteristischen Stoffwechselprodukten ausgefüllt; des weiteren desorganisieren sich diese Plastiden (Abb. 12.) und der „frei“ gewordene elektronenoptische Stoff (Gerbstoff) häuft sich in Form kleinerer oder größerer Aggregate in der Vakuole der Zelle an (Abb. 13., 14.). Während derselben Zeit ist auch die Bildung zahlreicher Vesikeln zu beobachten, die größtenteils von den Dictyosomen und in geringerem Maße vom endoplasmatischen Retikulum herrühren (Abb. 9.), aber in diesen konnte die elektrodente Ausscheidung mit Bestimmtheit nicht registriert werden. Ihre Rolle ist jedoch bei der Synthese der Gerbstoffe nicht auszuschließen; es ist anzunehmen, daß sie die intermediären Produkte der Synthese enthalten.

Diskussion

Aufgrund zahlreicher Untersuchungsergebnisse beginnt sich die Stelle der Synthese der von den verschiedenen Ausscheidungssystemen erzeugten oder in ihnen ausgeschiedenen Exkrete — ihre Lokalisation innerhalb der Zelle — abzuzeichnen. Als primäres biosynthetisierendes Gebiet werden von der Mehrheit der Autoren die Plastiden bezeichnet, z. B. Frey-Wyssling (1935), Vrtar (1939), Schnepf (1964) in bezug auf Polyterpene, Heinrich (1965) aufgrund der Lokalisation der Exkrete von Drüsenzellen in der Zellwand der Citrus-Arten. Im Zusammenhang mit der Bildung des ätherischen Öls *Acorus* deutet auch Amelunxen — Gronau (1968) auf Plastischerkunft hin, usw.

Über die Herkunft der Gerbstoff-Vesikeln bzw. Vakuolen gehen die Ansichten schon mehr auseinander. Die Möglichkeit der Vakuolen plastider Herkunft wird zwar nicht ausgeschlossen: Schnepf (1969) und Constabel (1969) betonen vor allem die Rolle des Dictyosoms und des Ergastoplasmas, während Ginsburg (1967) aufgrund von Untersuchungen anderer Objekte die Synthese und die Anhäufung der Gerbstoffe mit dem endoplasmatischen Retikulum in Verbindung bringt. Für die Auswertung der Frage ist die biochemische Studie von Zaprometov — Kolonkova (1967) von Bedeutung, wonach die Plastiden als die primären Bildungsstätten der Phenolverbindungen zu betrachten sind. Wardrop — Cronshaw (1962) schließen aufgrund elektronenmikroskopischer Aufnahmen auf einen engen Zusammenhang zwischen dem Abbau der Stärkereserven und der Erscheinung der phenolhaltigen Stoffe.

Vergleichen wir unsere bisherigen Erfahrungen mit den Feststellungen der angeführten Autoren, so stehen wir in bezug auf die Bildung der gerbstoffhaltigen Zisternen, später Vakuolen der beiden untersuchten *Cornus*-Arten mit der Meinung jener im Einklang, die die Bedeutung der plastiden Herkunft

unterstreichen. Da wir eine vollständige Entwicklungsreihe verfolgen und gleichlaufend mit der Erscheinung der elektrodenten Ausscheidungen die Bildung der von Dictyosomen und dem endoplasmatischen Retikulum herrührenden zahlreichen Vesikeln beobachten konnten, können wir auch die Möglichkeit nicht ausschließen, daß die letzteren in den Synthese der erwähnten Polyphenole als intermediäre Stoffwechselprodukte teilnehmen könnten. Allerdings könnten für diesbezügliche konkrete Feststellungen erst die geplanten autoradiographischen Studien eine entsprechende Grundlage liefern.

Zusammenfassung

Die Abhandlung befaßt sich mit der Entwicklung der sich in der Außenwand des Gynäzeums bzw. der Früchte von *Cornus sanguinea* L. und *Cornus mas* L. organisierenden gerbstoffhaltigen Zellen und in diesem Zusammenhang mit der Lokalisation der Gerbstoffsynthese auf licht- und elektronenmikroskopischer Basis.

Bei beiden Arten ist eine postflorale Erscheinung der Gerbstoffzellen zu beobachten. Während sie in den untersuchten Geweben von *Cornus sanguinea* vereinzelt und zerstreut angeordnet sind, organisieren sie sich in *C. mas* in „Zellenpaare“ oder in Gruppen verschiedener Größe. Was die Herkunft der Gerbstoff-Vesikeln und die Stelle der Synthese anbelangt, deuten unsere bisherigen elektronenmikroskopischen Beobachtungen auf eine plastide Herkunft hin. Jedoch ist auch die Bildung von zahlreichen Vesikeln und Vakuolen zu beobachten, die von Dictyosomen und zum Teil vom endoplasmatischen Retikulum herrühren, und deren Rolle noch nicht vollständig geklärt ist; es ist anzunehmen, daß sie intermediäre Produkte der Synthese enthalten. Autoradiographische Untersuchungen sind des weiteren geplant, um dies nachzuweisen.

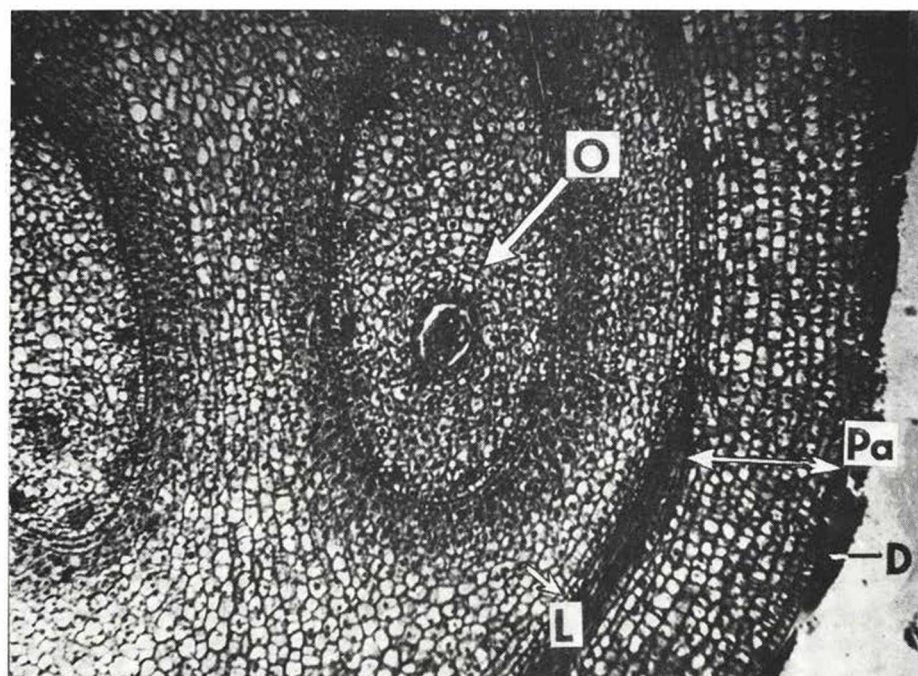


Abb. 1. Längenschnitt des Gynäzeums von *Cornus sanguinea*
D = Deckhaar, Pa = Parenchym, O = Ovulum, L = Leitgewebe. — Vergr.: 32×

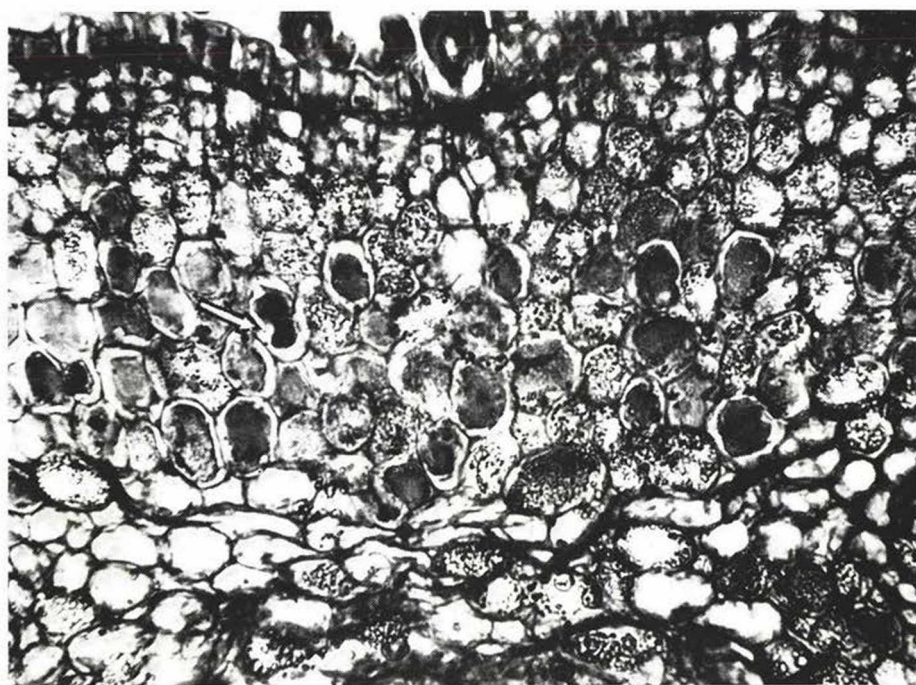


Abb. 2. Gerbstoffanhäufung in verschiedenen Stadien bei *Cornus sanguinea*
L. — Vergr.: 80 x

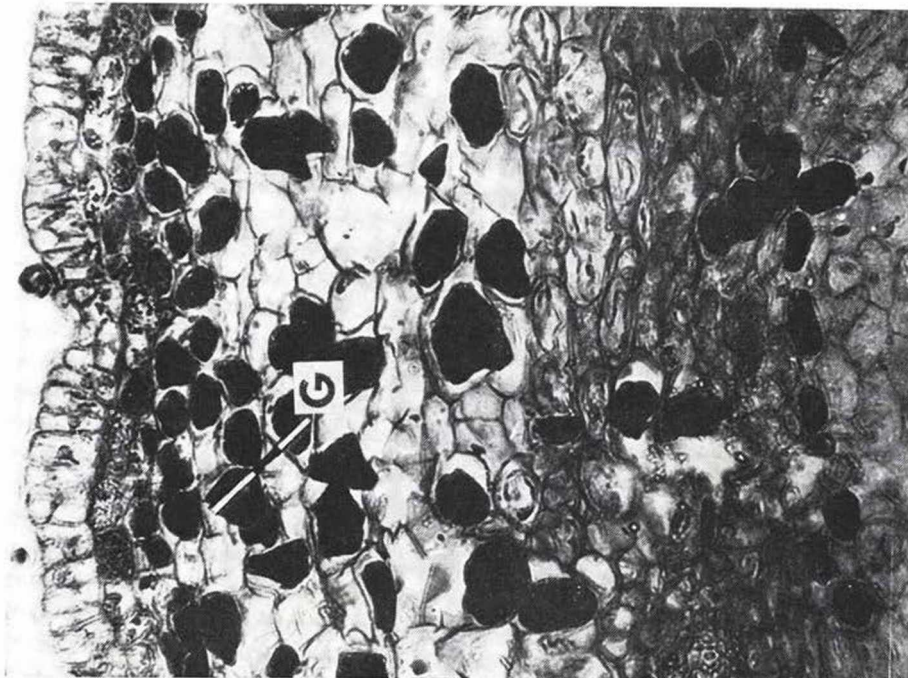


Abb. 3. Gerbstoffanhäufung in verschiedenen Stadien bei
Cornus sanguinea L. — Verg.: 80 x

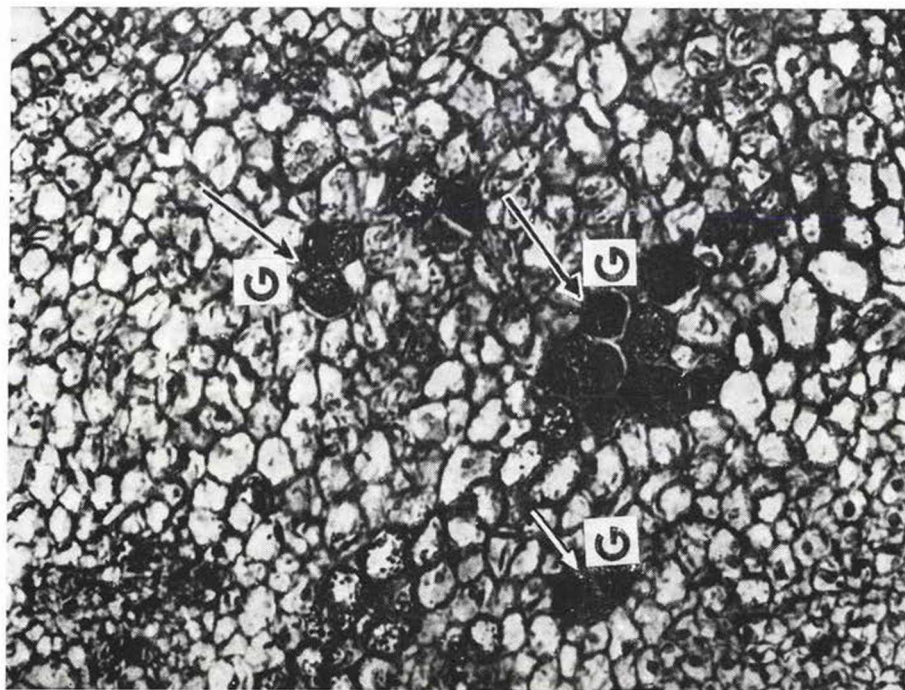


Abb. 4. Gerbstoffanhäufung in verschiedenen Stadien bei *Cornus mas* L.
G = gerbstoffhaltige Zellen. — Verg.: 80 x

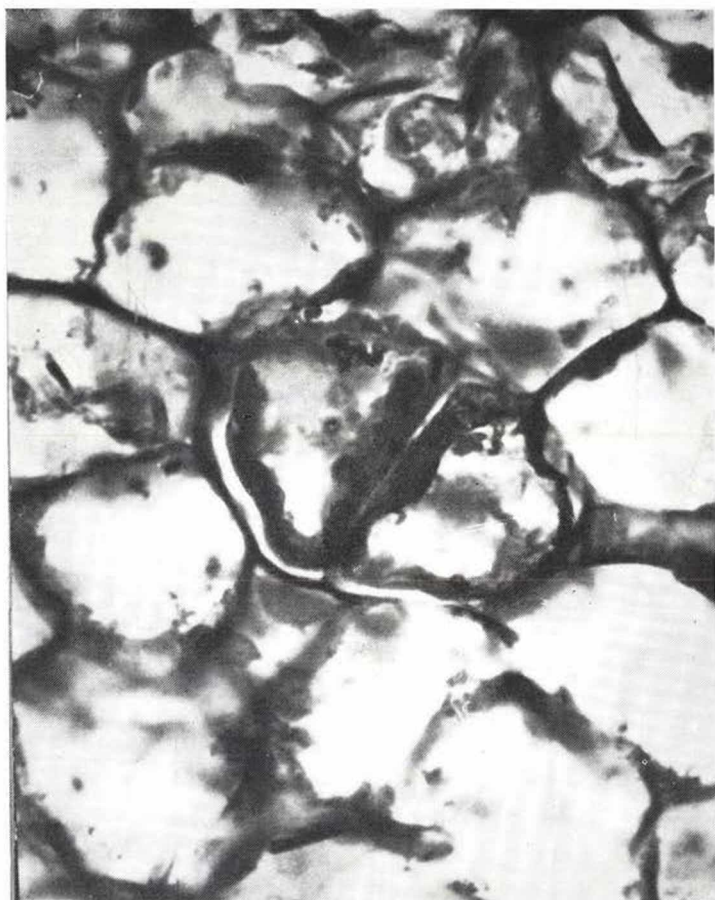


Abb. 5. Entwicklung gerbstoffhaltiger „Zellenpaare“ bei
Cornus mas. — Vergr.: 160 x

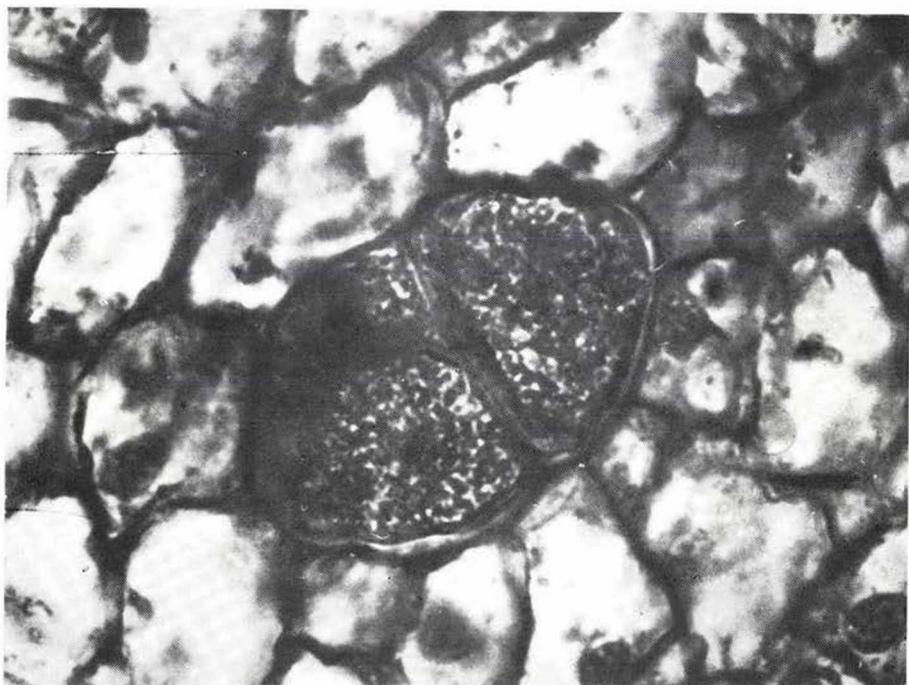


Abb. 6. Entwicklung gerbstoffhaltiger „Zellenpaare“ bei *Cornus mas*. — Verg.: 160 x

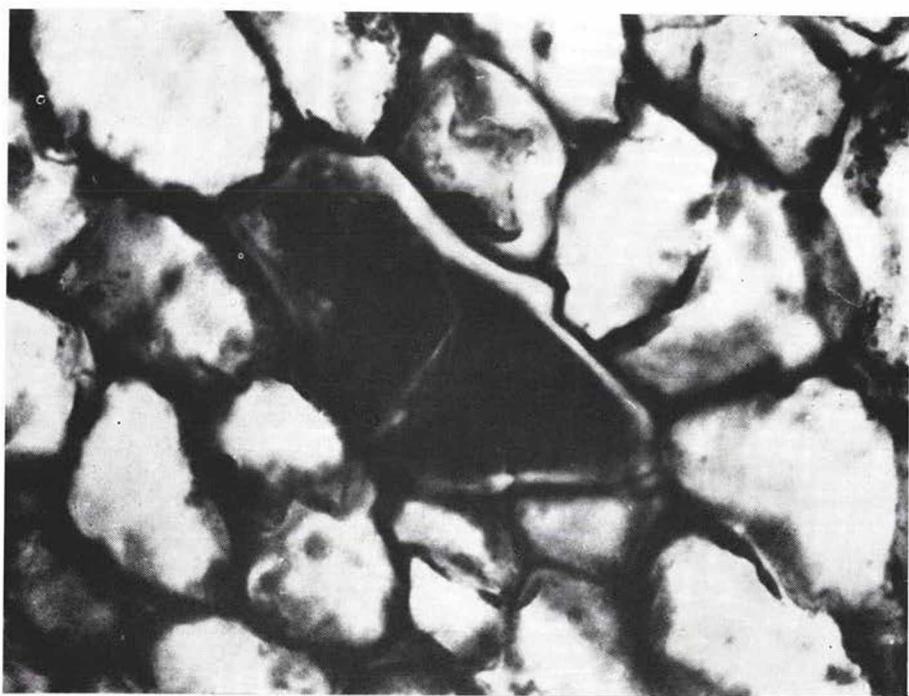


Abb. 7. Entwicklung gerbstoffhaltiger „Zellenpaare“ bei *Cornus mas*. — Vergr.: 160 x

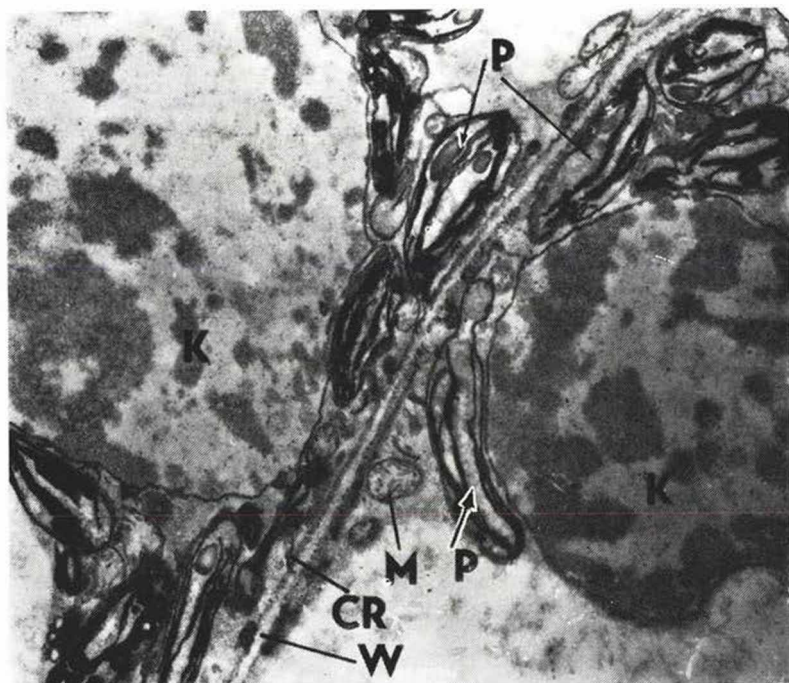


Abb. 8. Elektronenmikroskopisches Bild eines typischen „Zellenpaars“ bei *Cornus mas*.

P = Plastis, M = Mitochondrium, CR = endoplasmatisches Retikulum, K = Zellkern, W = Zellwand. — Vergr.: 6000×

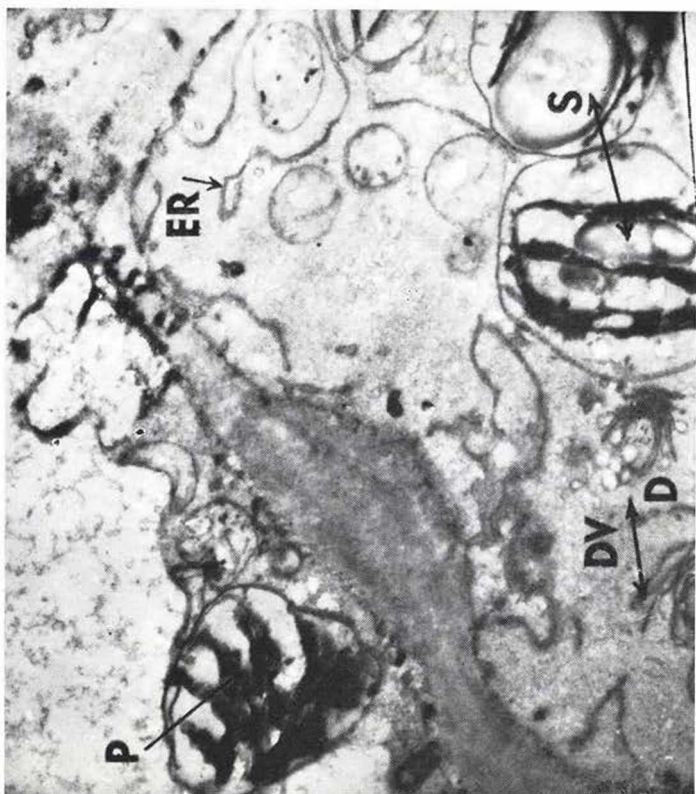


Abb. 9 – 10, Elektronenmikroskopisches Bild eines Zellteiles bei *Cornus sanguinea*

D = Dictyosom, S = Stärke, DV = Dictyosom – Vesikel — Vergr.: 9000 \times ; 1. 600 \times

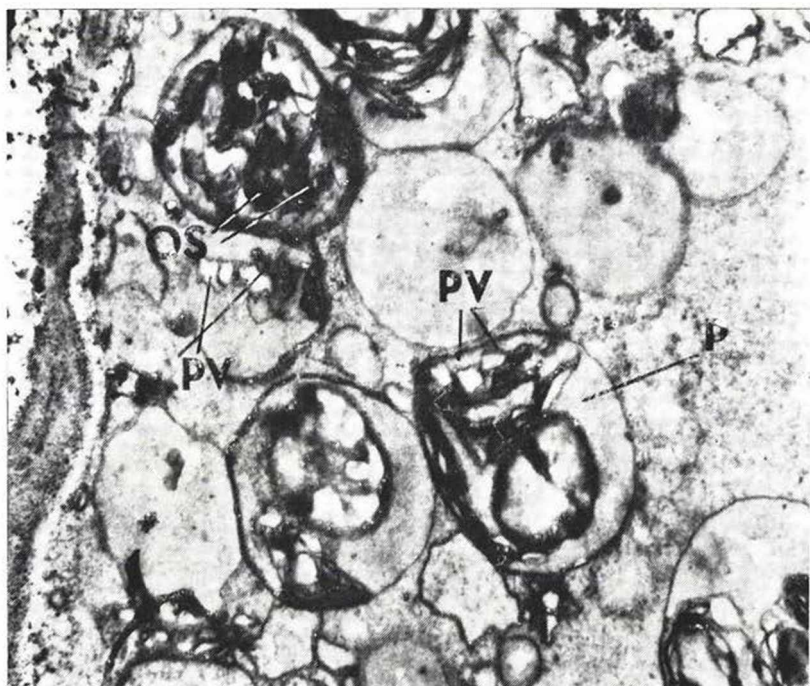


Abb. 11. Bildung zahlreicher Vesikeln in den Plastiden bei *Cornus sanguinea*.
OS = elektrodente Substanz, PV = Plastis Vesikel — Vergr.: 9000 x

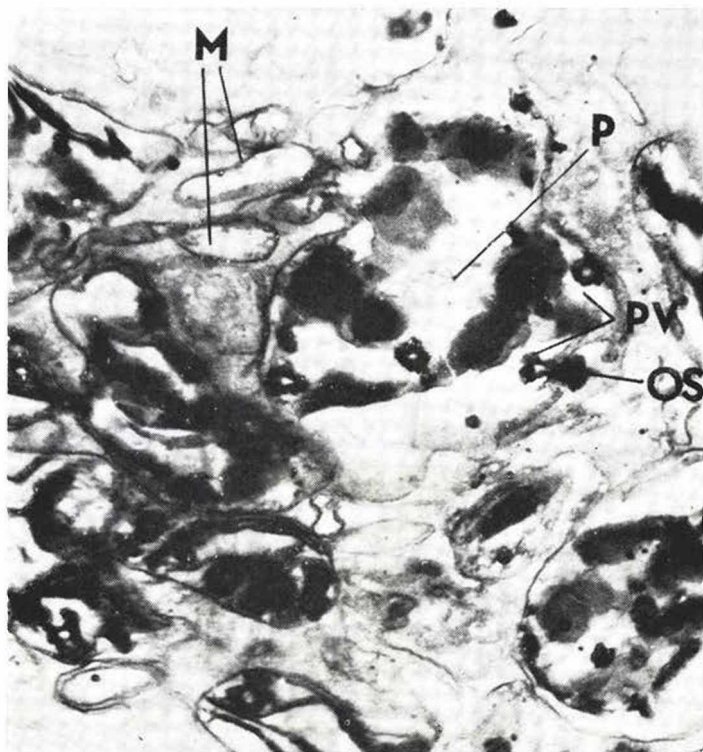


Abb. 12. Desintegrierte Plastiden, mit Vesikeln gefüllt mit elektronenoptischer Substanz (Gerbstoff) bei *Cornus mas*. — Vergr.: 9000 x



Abb. 13. Elektronenmikroskopisches Bild von Zellen mit und ohne Gerbstoffgehalt bei *Cornus mas*. — Vergr.: 3000 x

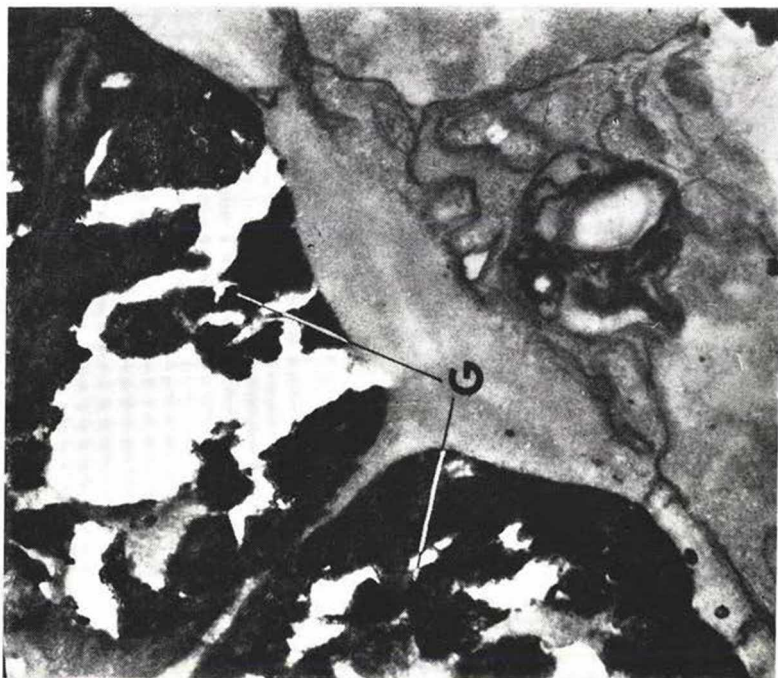


Abb. 14. Teilansicht der gerbstoffhaltigen Zellen — elektronenmikroskopische Aufnahme (*Cornus mas*). — Vergr.: 9000 x

SCHRIFTTUM

- Amelunxen, F. — Gronau, G. 1968. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Ölzellen von *Acorus calamus* L. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie **60**: 156—168.
- Constabel, F. 1969. Über die Entwicklung von Gerbstoffzellen in Calluskulturen von *Juniperus communis* L. Planta Medica **17**: 101—115.
- Esau, K. 1965. Anatomy and Cytology of Vitis phloem. Hilgardia, **37**: 17—72.
- Frey-Wyssling, A. 1935. Die Stoffausscheidungen der höheren Pflanzen. Springer, Berlin.
- Ginsburg, C. 1967. The relation of tannins to the differentiation of the root tissues in *Reaumuria palaestina*. Bot. Gaz. **128**: 1—10.
- Heinrich, G. 1965. Licht und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Genese der Exkrete in den lysigenen Exkretsräumen von *Citrus medica*. Flora, **156**: 451—456.
- Juhász, G. 1964. A *Cornus sanguinea* L. virágzatának és virágjának fejlődésanatomi és szövettani elemzése. (Evolution-Morphological and Histological Analysis of Inflorescence and Flower of *Cornus sanguinea* L.) Diss. Budapest p. 104.
- Juhász, G. 1966. Analyse der anatomischen Verhältnisse am vegetativen und reproduktiven Spross-System von *Cornus mas* L. Annales Univ. Sci. Budapest. Ser. Biol. **8**: 121—133.
- Juhász, G. — Dános, B. 1966. Examination of secretory cavities and their excretion in the pericarp of the Cornel (*Cornus mas* L.) Acta Agron. Acad. Scient. Hung. **15**: 349—360.
- Juhász, D. G. — Dános, B. — Rakován, N. J. 1968. Feinstrukturelle Beziehungen der Entwicklung von Sekretbehältern bei *Cornus mas* L. Bot. Közlem. **55**: 85.
- Juhász, G. — Dános, B. and Rakován, J. 1968. Electron-Microscopy and histochemical examination of the excretion-storing system in *Cornus mas* L. Acta Biol. Acad. Scient. Hung. App. **19**: 498.
- Sárány, S. — Szalai, I. 1964. Növényzeti Praktikum I. Növényismereti gyakorlatok (Botanical Practicum I. Plant-anatomical Exercises). Tankönyvkiadó, Budapest.
- Schnepf, E. 1964. Zur Cytologie und Physiologie pflanzlicher Drüsen 5. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cyathialnektarien von *Euphorbia pulcherrima* in verschiedenen Funktionszuständen. Protoplasma **58**: 193—219.
- Schnepf, E. 1969. Über den Feinbau von Öldrüsen I. Die Drüsenhaare von *Artium lappa*. Protoplasma **67**: 185—194.
- Vrtar, B. 1949. Morfológija i plastidogeni postanak kaučukovih zrnaca kod smokve (*Ficus carica*) i gumijevca (*Ficus elastica*). Acta Bot. Croat. **12/13**: 165—193.
- Wardrop, A. B. — Cronshaw, J. 1962. Formation of phenolic substances in the ray parenchyma of Angiosperms. Nature **193**: 90—92.
- Zaprometov, M. N. — Kolonkova, Sz. V. 1967. On the biosynthesis of phenolic compounds in chloroplasts. Dokl. Akad. Nauk. SSSR **176**: 470—473.